

Válasz Prof. Dr. Hegyi Péter, az MTA Doktora opponensi véleményére

Mindenekelőtt köszönöm Hegyi Péter professzor úrnak, hogy vállalta értekezésem bírálatát, köszönöm elismerő szavait a témaválasztást illetően, melyben a témaválasztást aktuálisnak, gyakorló klinikusok számára fontosnak minősítette, valamint, hogy az új eredmények alapján javasolta az értekezés nyilvános vitára bocsátását. A munka és az értekezés célja hazai- és nemzetközi kooperációban a genetikai-, szerológiai- és klinikai-környezeti tényezők, mint lehetséges rizikófaktorok és prediktív tényezők komplex vizsgálata volt a gyulladásos bélbetegségek patogenezisében és a betegség lefolyása során, a szövődmények és a terápiára adott válasz előrejelzésére. A kérdések felvetéséhez, bár a jelen értekezésben csak részleteiben szerepelnek, döntően hozzájárultak az epidemiológiai természetű vizsgálataink, ezért a bevezetésben a betegség epidemiológiájának, klinikumának és jelenlegi kezelési stratégiájának a bemutatása kiemelt hangsúlyt kap. A kérdések bölcsője a beteg, a mindennapi betegellátás során felmerült kételyek, bizonytalanságok, ellentmondások. Erre kerestük a komplex választ a genetikai, szerológiai, egyéb laboratóriumi és klinikai-környezeti tényezők együttes vizsgálatával. Gyakorló klinikusként a végső cél a betegek ellátásának minőségi javítása a mindennapokban, a betegség és a várható kórlefordulás, valamint a kezelés minél pontosabb előrejelzése révén.

Köszönöm Professzor Úr méltató szavait a publikációs teljesítményt és annak visszhangját illetően. Az elmúlt években a munkacsoport a feltett kérdésekre a választ az egymásra logikusan épülő vizsgálatokban kereste, így például a bakteriális érzékelésben kiemelt szerepet játszó különböző genetikai tényezők mellett a szerológiai mérések a szervezetnek a mikrobiális faktorokra adott egy másfajta reakcióját mérték. Minden esetben kiemelten törekedünk arra, hogy a kórlefordulással és a terápiás kimenetellel való összefüggéseket a klinikai zavaró tényezők és esetenként a terápiás stratégia szempontjából is korrigálni/illeszteni tudjuk. Ez a szigorú értékelés és a visszafogott következtetések nagymértékben hozzájárultak ahhoz, hogy a dolgozatok a szakterület egyre jelentősebb folyóirataiban kerültek elfogadásra. Egy kutató-klinikus számára pedig talán még fontosabb, hogy munkájának visszhangja legyen. Az elmúlt néhány év citációja, a nemzetközi együttműködések szintén arra utalnak, hogy más munkacsoportok érdeklődését is felkeltettük, esetenként közös gondolkodásra, közös munkára serkentettünk.

Köszönöm Professzor Úr formai bírálatát. A módszerek fejezetben több alkalommal valóban csak a módszerek tömör lényegi leírása szerepel, ezeket azonban az eredeti közlemények részletesen tartalmazzák. Ez látszott célszerűnek azért is, mivel a munka újdonsága nem

elsősorban az új metodikák fejlesztésében rejlik. Megjegyzést érdemel, hogy a PCR metodikákat többségében helyben állítottuk be, Dr. Tornai Attila és Dr. Andrikovics Hajnalka segítségével, a szerológiai meghatározások a gyártók által megadott paraméterek szerint történtek.

A feltett kérdésekre az alábbi válaszokat adom:

1. Az egyes vizsgálatokba különböző számú betegek lettek bevonva. Hogyan lettek kiválasztva? Mennyi volt a különböző tanulmányok között betegekben az átfedés?

Az egyes vizsgálatokba a gasztroenterológiai szakrendelésen megjelenő biztos gyulladásos bélbetegség diagnózissal és legalább egy év követéssel rendelkező Crohn- és colitis ulcerosás betegek lettek bevonva. Egymás utáni betegek bevonására törekedtünk, hogy a szelekciós hiba elkerülhető legyen. A genetikai és szerológiai vizsgálatokhoz 3 alkalommal gyűjtöttünk betegeket, így külön betegcsoportban vizsgáltuk a NOD2/CARD15 és DLG5, az ATG16L1 és IL23R, illetve az IRGM, NKX2-3 és ECM1 variánsokat. A betegek többségétől, leszámítva az utolsó gyűjtést, szérum minta levétele is történt, ezekből történtek a szerológiai meghatározások. A klinikai vizsgálatok mindegyike különböző betegcsoportban történt. A dohányzás és az agresszív kezelés szerepét a SE I. sz. Belgyógyászati Klinikáján és a Honvéd Kórházban gondozott gyulladásos bélbetegekben vizsgáltuk. A veszprémi populációs alapú epidemiológiai vizsgálat colitis ulcerosás betegein vizsgáltuk a colorectális rákrizikót és annak prediktorait. Ugyancsak a veszprémi vizsgálat Crohn-betegein vizsgáltuk a kezelési stratégia és a sebészeti rizikó kapcsolatát. Külön betegcsoportban, a Debreceni Egyetemmel együtt vizsgáltuk a magas szenzitivitású C-reaktív fehérje és szolúbilis CD14 szerepét, illetve közös tanulmányban a biológiai terápiás centrumok közreműködésével az adalimumab kezelés klinikai hatékonyságát meghatározó faktorokat.

2. Mit gondol, miért van a dohányzásnak különböző hatása CU-ban és Crohn-betegségben? Milyen mechanizmus révén csökkentheti a dohányzás a gyulladásos tüneteket CU-ban?

A dohányzás ellentétes hatása Crohn-betegségben és colitis ulcerosában a környezeti faktorok egyik legérdekesebb kérdése (Mahid et al. Mayo Clinic Proc 2006;81:1462). Saját, újabb, az értekezés beadását követően megjelent tanulmányunkban a kérdést tovább finomítottuk (Lakatos et al. Inflamm Bowel Dis 2013;19:1010). A betegség kialakulása és klinikai képe nem egységes. Feltételezhető, hogy minél korábban indul a betegség, annál kiemeltebb a genetikai tényezők szerepe. Így extrém példaként egyes IL10-receptor mutációk (Glocker et al. NEJM 2009;361:2033, Kotlarz et al. Gastroenterology 2012;143:347) már az élet első néhány hónapjában súlyos colitisnek megfelelő kép kialakulásához vezetnek fistulákkal,

perianalis tályogokkal. Ugyanígy, a korai életkorban más szerológiai markerek jellemzőek, mint a felnőtt korban induló esetekben (anti-Cbir, Targan et al. Gastroenterology 2005;128:2020). Az életkor előrehaladtával a genetikai tényezők szerepe feltételezhetően csökken, és egyre fontosabbá válnak a környezeti tényezők. Mivel a dohányzás az egyik legerősebb környezeti faktor (leszámítva Ázsiát, Ng et al. Gut 2013;62:630), így feltételeztük, hogy e tényező hatásának már igen korán érvényesülnie kell. A saját tanulmányunk adatai ezt meg is erősítették. Szem előtt tartva, hogy a dohányzás gyakorisága 13 éves kor körül kezd emelkedni Magyarországon, kb. 4-5 éves expozíció volt szükséges a hatás megjelenéséhez, azaz már 18 éves kor körül fokozódott a Crohn és csökkent a colitis ulcerosa rizikója. A hatás azonban életkor függő, 50 éves kor körül már nem észlelhető. Ez logikusnak is tűnik, hiszen a már több évtizede dohányzóknál a betegség az arra fogékonyakban valószínűleg már korábban megjelent volna, azaz más környezeti tényezők hatása feltételezhető az idősebb életkorban induló betegségben. Még tovább bonyolítja a képet, hogy a dohányzásnak a betegség lefolyására gyakorolt hatása a nemtől is függ: jobban érvényesül nőkben, mint férfiakban (Cones J et al. Clin Gastroenterol Hepatol 2004;2:41). Mint ebből is látható, a kérdést nem lehet olyan egyszerűen megválaszolni. Annyi bizonyos, hogy a genetikai, az immunológiai és a nemi különbségek miatt talán hormonális tényezőknek is szerepe lehet. A két betegség genetikai háttere, és így a gyulladásos mechanizmus, legalábbis részben különbözik (Jostins et al. Nature 2012;491:119, Cho et al. Gastroenterology 2011;140:1704, Lees et al. Gut 2011;61:1739). A gyulladásos mechanizmus kulcsszerepére utal továbbá az is, hogy immunszuppresszív kezeléssel Crohn-betegségben a dohányzás kedvezőtlen hatása részben kivédhető (Szamosi et al. EJGH 2010;22:872, Cosnes J Gastroenterology 1996;110:424).

A pontos hatásmechanizmus, amely révén a dohányzás befolyásolja az IBD kialakulását és lefolyását, nem tisztázott (Lakatos et al. World J Gastroenterol 2007;13:6134). A dohányfüst különböző alkotóelemeinek (nikotin [pl. IL1beta, IL-2, IL-8, TNF alfa expressziót csökkenti, mucin szekréciót növeli], szabadgyökök, szénmonoxid [pl. IL-10 expressziót növeli]) különböző hatása lehet. A bélmotilitás, a nyáktermelés, a permeabilitás és a keringés megváltozása egyaránt szerepet játszhat. Ezeken felül a dohányzás az antigén mediálta T-sejt proliferáció gátlásával gátolja az immunrendszer működését. Gátló hatású továbbá a Th2 sejtek működésére, de nincs hatása a Th1 sejtekre, ami magyarázhatja az eltérő hatást a két betegségben. Egy 2012-ben megjelent francia közlemény (Bergeron et al. Inflamm Bowel Dis 2012;18:1101) szolgál feltehetőleg az eddigi legpontosabb magyarázattal. A dohányzás különböző hatását mutatták ki Crohn-betegekben és colitis ulcerosában. Dohányzó Crohn-betegek perifériás véréből izolált mononukleáris sejteinek csökkent kemokin és citokin

expresszióját mutatták ki a nemdohányzó Crohn-betegekhez, illetve dohányzó egészségesekhez és dohányzó colitis ulcerosás betegekhez képest. Érdekes módon a sejtek in vitro dohánykivonat expozíciója hasonló eredménnyel járt.

3. A környezeti tényezők közül vizsgálták-e a városi/falu környezet, költözés/migráció illetve iskolai végzettség hatását?

A város/falu, költözés/migráció, iskolai végzettség hatását igen nehéz hosszú távon vizsgálni. A jelen értekezésben nem, de korábbi saját tanulmányunkban vizsgáltuk a városi környezet („urbanizáció”) szerepét a betegség rizikója szempontjából (Lakatos et al. World J Gastroenterol 2004;10:404). Colitis ulcerosa (OR: 1,27) és Crohn-betegség (OR: 1,13) is gyakoribb volt a városi környezetben. Hasonló adatok ismertek más nemzetközi tanulmányokból is (Klement et al. Am J Gastroenterol 2008;103:1775). A migráció a veszteprémi adatok szerint viszonylag alacsony, így ennek a szerepét nem lehetett vizsgálni. A nemzetközi tanulmányok a higiénés faktorok szerepét illetően részben ellentmondásosak (Castiglione et al. J Crohn Colitis 2012;6:324). Felvetették, de nem minden tanulmányban erősítették meg a szoptatás, gyermekkori védőoltások, a családméret, bizonyos étrendi tényezők, pl. finomított cukor, zöltségek/rostok, vörös húsok (Hansen et al. J Crohn Colitis 2011;5:577), a korai antibiotikum szedés (Shaw Y et al. Am J Gastroenterol 2010;105:2687), a bevándorlás (Bernstein et al. Am J Gastroenterol 2006;101:993), az iskolai végzettség (Gearry et al. J Gastroenterol Hepatol 2010;25:325) elősegítő, illetve védő szerepét. A tanulmányok azonban részben ellentmondásosak, és legalábbis részben függenek a földrajzi-etnikai tényezőktől is. Erre utalnak az Észak-Amerikából közölt bevándorlási tanulmányok is, azaz az első generációban a betegség a származási helyre jellemző incidenciát mutat, majd a második generációban már a befogadó országra lesz jellemző az érték (Bernstein et al. Am J Gastroenterol 2006;101:993). Azt is fontos megjegyezni, hogy legalább ilyen színes a kép, ha a betegség lefolyása szempontjából vizsgáljuk meg a fenti tényezők szerepét (Ng et al. Gut 2013;62:630).

4. Saját adataiban a colorectális rákrizikó alacsonyabb volt a nemzetközi irodalomhoz képest. Mi lehet ennek a hátterében?

Az ellentmondás csak látszólagos. A jól ismert Eaden (Eaden et al. Gut 2001;48:526) metaanalízisben közölt érték jelentős mértékben centrum adatokon alapul, azaz a rákrizikót felülbecsli, ez a magyarázata a tankönyvekben a mai napig szereplő magas, 10-, 20- és 30-éves colorectális rákrizikónak. A saját populációs alapú tanulmányunkban a relatív rákrizikó (SIR: 1,74) érdemben megegyezett egy az értekezés benyújtásával egyidőben megjelent újabb

metaanaízis adataival (Jess et al. Clin Gastroenterol Hepatol 2012;10:639). Ebben a tanulmányban csak a populációs alapú vizsgálatok adatait értékelték. A relatív kockázat összességében 2,4-szeres volt, az egyes tanulmányokban 1,05-3,1 között mozgott. Különbség volt azonban a nem (férfiakban magasabb a rizikó), a kiterjedés, továbbá a primer sclerotizáló cholangitis jelenléte szerint. Ennél is fontosabb azonban, hogy az abszolút kockázat az adott országban mérhető sporadikus colorectális rák előfordulásától függ, és mivel Magyarország ebben a tekintetben a világ élvonalába (férfiakban 80,2/100 000/év, az európai rangsorban 2., nőkben 50,2/100 000/év, az európai rangsorban 1., Ottó S, Kásler M, Magyar Onkol 2005;46:111) tartozik, a rákrizikó az egyes betegek szintjén a szűrés ellenére korántsem elhanyagolható. Ezzel szemben, Crohn-betegekben összességében nem találtunk fokozott colorectális rákrizikót, leszámítva a már kezdetben is vastagbél szűkülettel rendelkező betegek csoportját (Lakatos PL et al. J Crohn Colitis 2011;5:122 és Lovasz BD et al. J Gastrointestin Liver Dis 2013;22:265).

5. A jelölt igazolta, hogy a LBP, sCD14 illetve a hsCRP pontos markerek az aktív betegség azonosítására Crohn-betegségben. A markerek kombinációjával a diagnosztikus pontosság növelhető. Javasolná-e ezeket a vizsgálatokat rutin vizsgálatként? És ha igen milyen kombinációban?

6. A szérumban LBP, sCD14 és a korábbi klinikai relapszusok száma független tényezők bizonyultak a meghatározást követő 12 hónapban a klinikai relapszusok előrejelzésére. Szükségesnek ítéli-e mind a két marker prediktív alkalmazását a klinikai aktivitás középtávú prognosztizálására Crohn-betegekben?

A markerek kombinációjával a szenzitivitás természetesen csökken, míg a specificitás egyértelműen nő (lásd az eredeti közlemény 2. és 3. táblázat). Az egyes, a tanulmányban vizsgált markerek diagnosztikus pontossága külön-külön csak közepesnek mondható. Azt is fontos megjegyezni, hogy a gyakorlatban a fenti markereket természetesen a klinikai tünetek, a rutin laboratóriumi leletek, a képalkotó eredmények és az endoszkópos kép ismeretében értékeljük. A hsCRP gyakorlatilag a rutin diagnosztika részét képezi, így ennek a folyamatos követése a klinikumban annak ellenére sem kérdéses, hogy a Crohn-betegek kb. egy harmada, míg colitis ulcerosában a betegek közel fele nem mutat CRP emelkedést (Kiss et al. Inflamm Bowel Dis 2012;18:1647). A többi marker hozzáadása az aktív betegség kizárását segíti elő elsősorban a tünetes (vagy tünetmentes) betegben, azaz esetleges további képalkotó/endoszkópos vizsgálattól óvhatjuk meg a beteget.

A predikciós modellben a klinikai remisszióban lévő betegekben még így is kb. 20% eséllyel észleltünk klinikai fellángolást a követés során a minden markerre negatív betegben, míg egy-egy marker pozitivitása esetén a klinikai fellángolás esélye 40-50%, 2 vagy 3 marker

pozitivitás esetén a klinikai fellángolás esélye 60-75% volt. Így gyakorlatilag mindegy melyik markert/kombinációt használjuk, megállapítható, hogy a kombináció esetén a negatív betegekben a remisszióban maradás esélye nagy, ezzel ellentétben minél több „gyulladásos” marker pozitív, annál nagyobb a következő 3-12 hónapban a klinikai fellángolás esélye. Meg kell azonban jegyezni, hogy a gyakorlatban a CRP mellett egyre inkább egy székletmarker használata terjed el: a széklet calprotectin vizsgálat (Mao R et al. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:1894, D’Haens et al. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:2218). Értékes aktivitási és predikciós markernek bizonyult az eddigi vizsgálatok alapján különösen colitis ulcerosában és vastagbél lokalizációjú Crohn-betegekben. Egyre több országban rutinszerű a használata, sajnos Magyarországon a vizsgálat nem finanszírozott.

Összefoglalva, a mindennapi betegkövetés során a fenti markerek kombinált (preferáltan CRP és calprotectin) használata javasolt a betegség rövid-közép távú lefolyásának az előrejelzésére (kb. 3 hónap). A vizsgálatok kiemelt értéke a gyakorló klinikus számára, hogy kevesebb betegben kényszerülünk endoszkópos vizsgálatra a követés során. Ellentmondásos esetben azonban endoszkópos/képalkotó eljárással megerősítés szükséges. A fenti és a hasonló vizsgálatok másik nagy érdeme, hogy e vizsgálatok nyomán a betegkövetési stratégia az elmúlt évtizedben jelentősen átalakult. A tüneti követésen túl egyértelműen teret nyert a szoros és objektív betegkövetés, mely mind a laboratóriumi, mind a megfelelően időzített képalkotó és endoszkópos vizsgálatokat magában foglalja („tight patient control”). Ugyanígy, egyre kevésbé elégszünk meg a napi gyakorlatban a klinikai tünetek hiányával (klinikai remisszió), egyre elterjedtebb a törekvés az objektív gyógyulás elérésére, amely magában foglalja a normális biomarkereket és a negatív endoszkópos eredményt („deep remission”). A végső cél a betegek kilátásainak a javítása, és vannak arra utaló adatok, hogy a fenti betegkövetési és kezelési stratégia kedvezőbb hosszútávú kimenetellel jár együtt.

Még egyszer köszönöm Hegyi Péter Professzor Úr részletes és alapos bírálatát, az elismerő szavakat, a gyakorlati jelentőségre vonatkozó pozitív értékelését, észrevételeit, valamint azt, hogy az értekezést és a téziseket elfogadásra méltónak találta.

Budapest, 2014. június 7.

Dr. Lakatos Péter László